M. Billiard fait la communication ci-après :

## Note sur une Bactérie productrice de couleur verte;

PAR M. G. BILLIARD.

Notre collègue M. DANGEARD, professeur à la Faculté des Sciences, avait rencontré dans son laboratoire, parmi des Sulfuraires, des amas de matière verte, qu'un examen plus approfondi lui montra être entièrement formés par des Bacilles très fins, paraissant eux-mêmes de couleur verte.

M. DANGEARD nous avait fait part ici même, de son intéressante découverte, dans la séance du 14 mai dernier, nous conviant à venir voir, dans son laboratoire de la rue Cuvier, cette curieuse Bactérie.

Je répondis à son aimable invitation et le priai de bien vouloir me confier quelques parcelles du liquide dans lequel vivaient ces Bactéries, lui promettant d'essayer de les isoler de mon côté, chose qui n'avait pu être faite dans son laboratoire.

Malgré les difficultés que présentait cette opération, surtout lorsqu'il s'agit d'eau croupie, c'est-à-dire contenant un nombre considérable de germes, j'eus la chance de réussir à l'isoler après quelques tâtonnements. C'est le résultat de ces recherches, ainsi que les moyens que j'ai employés pour y parvenir, que je viens exposer ici.

### HABITAT.

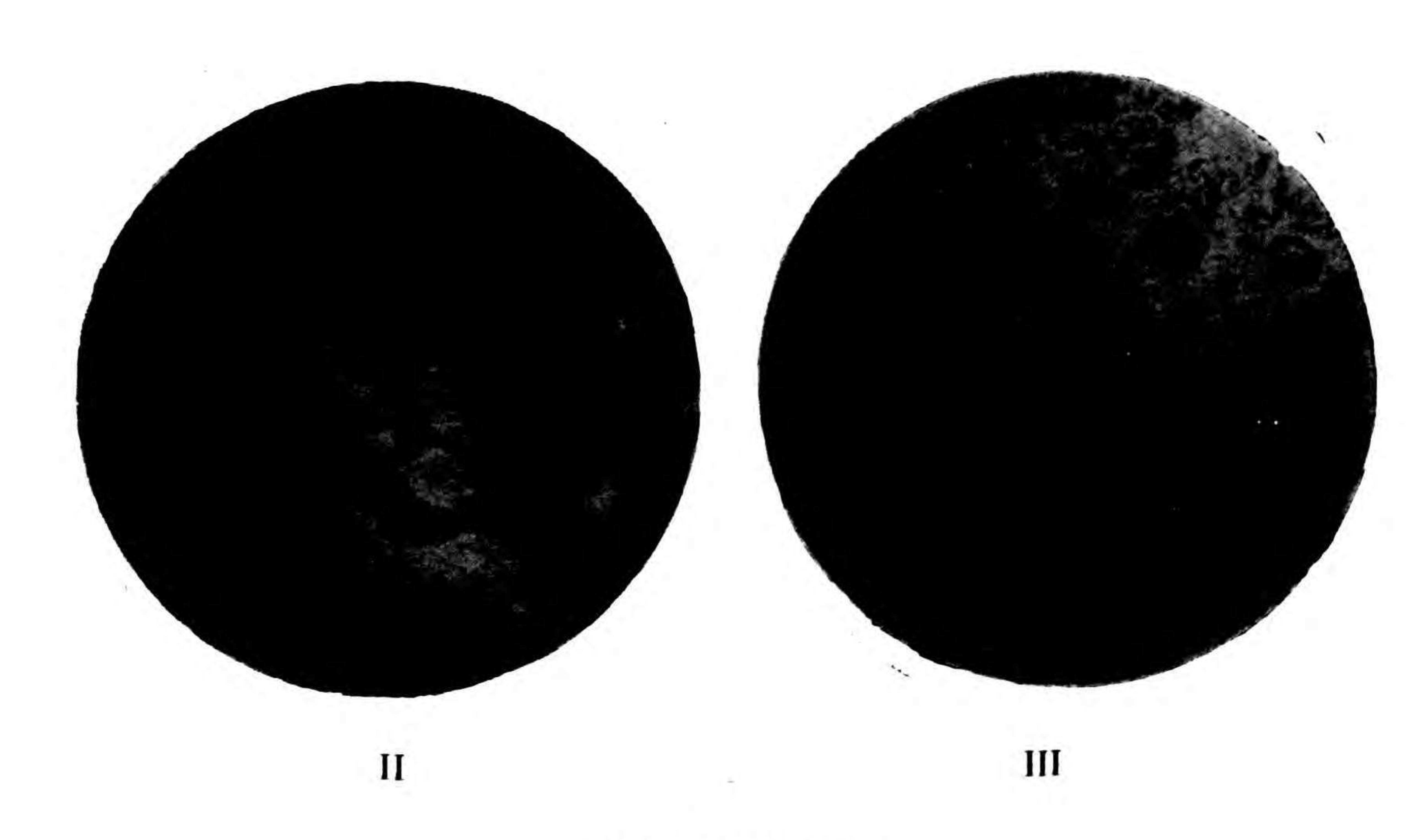
Cette Bactérie a été trouvée par M. DANGEARD, dans des vases remplis d'eau croupie et dans lesquels il cultivait des Algues.

Elle se montrait en amas verdâtres, qui presque toujours se trouvaient enclavés parmi des Sulfuraires, où la couleur de ces amas tranchait bien sur le rouge des autres éléments. Dans la photographie I (Pl. V), qui représente le frottis initial avec toutes ses impuretés, on remarquera de petits Bacilles fins (ceux qui nous intéressent), qui seuls sont au point, et, en silhouettes, des Sulfuraires, des Algues diverses, des Diatomées, etc.

Cette photographie donne assez bien l'aspect, moins la couleur, de ce qu'on voyait au microscope.



I



II III

BACTÉRIE VERTE

## MORPHOLOGIE.

**Caractères microscopiques.** — Ce sont des bâtonnets beaucoup plus longs que larges, assez épais et à extrémités arrondies, mesurant 1,2 μ à 1,5 μ de longueur sur une largeur constante de 0,3 μ. Ils se présentent isolés ou par deux et quelquefois en petits amas. Ils sont doués d'une motilité très grande et qui persiste fort longtemps, puisque le premier bouillon datant d'un mois, montre des bâtonnets aussi vigoureux qu'au premier jour.

Jusqu'à présent je n'ai pas vu se former de spores, il est probable qu'ils se reproduisent par bourgeonnement ou scissiparité.

**Coloration.** — Ils se colorent assez facilement, mais pas d'une manière constante, par les procédés de colorations ordinaires et se décolorent imparfaitement par la méthode de GRAM. Le ZIEHL dilué est la couleur qu'ils prennent le plus facilement.

**Cultures.** — Voici les procédés employés pour isoler cette Bactérie. Une très petite parcelle du dépôt dans lequel elle vit est diluée dans 5 $cm^3$ de bouillon. Après une agitation de quelques minutes pour assurer la dissociation des éléments, il est pris une goutte de ce bouillon pour le diluer de nouveau dans 5 $cm^3$; après quoi, ce bouillon sert à ensemencer par étalement divers milieux : gélose simple, gélose glycérinée, gélose ascite, gélose au sang, sérum, pomme de terre; puis en stries, piqûres et anaérobie, de la gélatine et de la gélose VEILLON.

Les cultures ne sont pas mises à l'étuve, elles sont laissées dans le laboratoire, près d'une fenêtre, à la température ambiante.

Au bout de 24 heures le bouillon est trouble, et les tubes de cultures contiennent déjà de nombreuses colonies diverses, mais aucune ne me donne ce que je cherchais, c'est-à-dire la coloration verte primitive.

C'est seulement au bout de 72 heures qu'apparaît sous une colonie poussant dans la gélose ascite, une faible coloration verdâtre. Cette colonie est immédiatement prélevée, diluée dans le bouillon et réensemencée sur tous les milieux précédents.

Après 24 heures le bouillon est trouble et opalescent, à l'examen microscopique en goutte suspendue, on constate la présence de petits bâtonnets souvent en diplobacilles (fig. II) et

doués de mouvements très vifs. Ils ne présentent pas, même en très grand nombre, de coloration verte.

Sur les autres milieux, ces colonies poussent très bien, sauf sur la pomme de terre et en anaérobie, et c'est encore au bout de 72 heures, que je constate la coloration verte, mais seulement sur gélose ascite. Les autres milieux restent colorés normalement, et il en sera de même toutes les fois que je réensemencerai de nouvelles cultures.

On peut donc conclure que cette Bactérie a la propriété de colorer en vert certains milieux définis à l'exclusion des autres.

Les caractères de cultures constatés sur ces divers milieux peuvent se résumer ainsi :

**Cultures dans le bouillon.** — Le bouillon se trouble très rapidement et donne en 24 heures un voile de surface très marqué, mais jamais très épais ni plissé. Il se forme au bout de 4 ou 5 jours un dépôt jaunâtre très abondant au fond du tube, et la couleur du bouillon est dichroïque : jaune par transparence, et opalescente par réflexion. Quand la culture devient vieille, le bouillon devient filant, et tend à s'éclaircir.

**Cultures sur gélose simple, glycérinée et sur sérum.** — Les Bactéries, bien que poussant très abondamment sur ces divers milieux, n'affectent aucune particularité caractéristique, c'est simplement une bande blanchâtre continue, pouvant quelquefois recouvrir complètement le milieu mais ne donnant jamais de coloration verte.

**Cultures sur gélose au sang.** — Là aussi la colonie forme une bande grisâtre peu caractéristique.

**Cultures sur pomme de terre.** — Plusieurs ensemencements faits sur pomme de terre, n'ont donné aucun résultat.

**Cultures sur gélatine (stries et piqûres).** — En stries sur gélatine, les cultures ont poussé abondamment tout en liquéfiant la gélatine en 4 jours. En piqûre la gélatine est liquéfiée dans le même laps de temps sans jamais donner de coloration verte.

**Cultures anaérobies.** — Les cultures dans la gélose Veillon n'ont donné aucun résultat, les colonies poussant seulement en surface prouvent que cette Bactérie est strictement aérobie.

**Cultures sur gélose ascite.** — C'est seulement sur ce milieu à

l'exclusion des autres, que la coloration verte est obtenue, et c'est ce qui explique la difficulté de les retrouver, ce milieu n'étant employé que par les laboratoires recherchant des Bactéries pathogènes. Cette coloration ne s'obtient pas, si les cultures sont mises à l'étuve ; de plus, il faut que les cultures soient à la lumière et bien aérées. Si les tubes sont décapuchonnés la couleur verte devient très rapidement intense.

J'ai obtenu des cultures alternativement colorées ou non, suivant que les ensemencements étaient faits sur gélose ascite ou sur gélose simple, bien que provenant du même bouillon.

**Cultures dans le lait.** — Le lait, est coagulé en 72 heures, et présente dans le fond du tube, un dépôt blanchâtre très abondant.

Les cultures sur ces différents milieux, n'ont jamais donné lieu à des émissions de gaz, et elles sont totalement dépourvues d'odeurs.

### Propriétés biologiques.

Je n'ai pas encore recherché quels produits se forment dans les cultures et s'il y a production d'indol. De même, je n'ai pas étudié la nature de la couleur verte produite, me réservant de le faire ultérieurement.

J'ai cependant, à titre de renseignement, inoculé un demi-centimètre cube d'un bouillon vieux de 4 jours, sous la peau d'une jeune souris. La souris fut tuée en 7 heures, et le sang du cœur (fig. III) contenait d'assez nombreux bacilles, qui réensemencés sur gélose ascite, ont reproduit la couleur verte.

La même quantité de bouillon, mais vieux de 8 jours inoculé sous la peau d'une souris adulte, n'a donné lieu, après 15 jours, à aucun résultat.

En résumé cette Bactérie, me semble nouvelle et ne se rattache, que je sache, à aucune des espèces connues.

Les espèces avec lesquelles on pourrait la confondre, sont : *Bacillus chlorinus* Engelmann, *B. viridis* Van Tieghem, *B. virens* Van Tieghem, *B. chlororaphis* Guignard et Sauvageau, *B. polychromogenes* G. Thyry, *B. fluorescens liquefaciens* Flugge, etc. Mais elle diffère de toutes, bien que se rapprochant de quelques-unes par certains côtés, par la constance avec laquelle elle pousse sur les divers milieux, en pro-